



膜翅目昆虫针插标本制作^{*}

吴 琼 C. van Achterberg 陈学新^{**}

(浙江大学昆虫科学研究所, 水稻生物学国家重点实验室, 农业部作物病虫害分子生物学重点实验室, 杭州 310058)

摘 要 膜翅目昆虫是一个外部形态特征多样化的类群, 标本制作的质量直接影响后续研究的方便程度。本文分步骤介绍了膜翅目针插标本的制作过程, 并探讨了标本清理整姿、胶水使用、标本粘贴方式、标签使用等的细节处理。

关键词 膜翅目, 标本, 针插, 制作方法

An introduction to pinned specimen preparation of Hymenopteran insects

WU Qiong van Achterberg C. CHEN Xue-Xin^{**}

(State Key Laboratory of Rice Biology and Ministry of Agriculture Key Laboratory of Molecular Biology of Crop Pathogens and Insects, Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract Hymenoptera is a speciose group of insects. This paper introduces how to properly prepare the pinned specimens of Hymenopteran insects, including the process and details of cleaning and positioning, proper use of a pinning block or and glues, and proper labelling.

Key words Hymenopteran insect, specimen, pinned, preparing method

膜翅目 Hymenoptera 昆虫包括叶蜂、寄生蜂、蚁、胡蜂和蜜蜂等, 不论是有害的还是有益的类群都与生产生活息息相关。膜翅目昆虫形态变化很大, 体长 0.3~40 mm, 体壁骨化程度差异大, 体表从几乎光裸到全身被毛, 是一个十分多样化的类群。

根据膜翅目昆虫的体型、虫态、研究目的和便于观察等因素, 标本主要制成针插标本、玻片标本和浸渍标本三类。本文仅讨论针插标本的制作, 玻片标本和浸渍标本都各自有不同的流程和规范, 将在今后陆续探讨。针插标本是标本制作最基本也是最常用的方式, 几乎所有昆虫研究者都学习或实践过, 但是在最熟悉的制作过程中仍会不时遇到一些细节上的疑虑和困惑, 本文将分

步骤介绍制作流程, 同时总结本单位膜翅目昆虫标本制作的经验, 并借鉴国内外学者和研究单位对各种细节处理的方法, 以资各位同行探讨。

膜翅目昆虫制作针插标本, 根据体型大小、体壁骨化程度、被毛情况、标本用途等, 在制作过程中需要细心选择最适合的处理方式, 以便在后续研究中能得到最好的标本状态。

1 临时储存

膜翅目昆虫的收集主要通过田间、野外直接采集和实验室饲养育出所得 (Wu *et al.*, 2015)。不论采用哪种形式, 常常没有时间和条件随时制成针插标本或其他永久保存方式, 需要进行临时储存, 而标本的质量往往和临时储存的方法和时

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金重点项目 (批准号: 31230068); 公益性行业(农业)科研专项 (批准号: 201303019)

**通讯作者 Corresponding author, E-mail: xxchen@zju.edu.cn

收稿日期 Received: 2017-03-03, 接受日期 Accepted: 2017-04-09

间长短相关。

野外采集的标本一般直接收集在酒精瓶里, 或者经毒瓶杀死后干燥存放。酒精浸渍的膜翅目标本注意避光保存, 常温或在冰箱里均能保存数年。选择乙醇浓度、是否低温保存需由昆虫体型、体壁骨化程度和后续研究的要求决定。干燥标本通常放在纸包纸盒内常温暂存, 选择密闭玻璃或塑料容器储存易使标本水分无法散失导致发霉; 如采用密闭容器在冰箱中保存干标本, 可在容器底部放少量吸水纸, 防止标本中过多的水分在容器内凝结。对于体型小或微小的膜翅目昆虫, 不建议以干标本的形式暂存, 因为细小的触角、头部和足很容易掉落, 也较易发生霉变或者冷冻脱水的情况, 为后续制作标本和研究带来不便。不论采用何种方式, 暂存标本的每个小容器都要有单独的、清晰无误的信息标签。

2 标本准备

标本制作完成后, 最完美的状态是外观完整无缺损, 体表洁净, 足、翅、触角等舒展自然, 重要特征清晰可见, 便于观察, 标本固定牢固、位置方向标准整齐, 标签信息完整规范。为达到理想的状态, 标本制作的过程中有许多细节值得重视和探讨。

2.1 标本回软

干燥保存的标本, 身体和附肢都已僵硬变脆, 需要进行回软以便调整姿态、清洁和插针。

干燥标本回软的方法通常是用回软器。使用热水蒸汽效果也很好, 回软速度快。另有一种用注射器快速回软的方法, 把干燥的标本放入去掉针头的注射器, 吸入一些水, 推动活塞排出多余空气, 堵上针孔确保针筒内真空, 轻轻拉活塞, 迫使水进入干标本达到快速回软的目的, 这种方法不适合体型大和太脆弱的标本 (Agnoli and Rosa, 2012)。

2.2 标本清洁、舒展

不论是干标本还是浸渍标本都有可能粘有污物或翅粘连扭曲, 影响标本质量。干标本最好

先回软浸入酒精再进行清洁。van Achterberg 总结了一种比较有效的清洁方法: 按 4:6 比例混合二甲苯和 96%乙醇, 混合液可以配置好长期放置, 随用随取; 小心倒出标本浸渍瓶中的乙醇, 再将混合液倒入, 浸渍 1~3 d 后将该混合液再次倒出, 并用乙酸戊酯代替, 标本在乙酸戊酯中存放 1~2 d (或更长时间) 后进行整姿 (van Achterberg, 2009)。他的方法要求标本浸渍在 70%乙醇溶液中, 实际上 95%乙醇浸渍过的标本采用这种方法也有效。Peterson 的 XA 混合液 (二甲苯和乙醇等比例混合) 也可以用来处理膜翅目的翅。这些混合液处理方法不但能有效清洁, 还兼具舒展翅面的作用 (Peterson, 1964)。

用临界点干燥法 (CPD) 处理酒精浸渍标本也是很好的方法, 特别是体壁骨化较弱的类群尤为适用, 可以大批量一次性干燥很多标本。

膜翅目中蜜蜂等体表被毛很多的类群, 从酒精瓶取出后可能会出现毛纠结成团的现象, 可以采用纤维素溶解剂和二甲苯来进行舒展: 先将标本取出放在吸水纸上吸去多余液体, 然后放入装有纤维素溶解剂 (乙二醇单乙醚、乙二醇乙醚) 的瓶中浸渍几个小时, 取出后放在吸水纸上吸取多余液体。随后将标本放入装有二甲苯的瓶中, 这个过程需格外小心, 以免碰掉标本的触角、足或头部。浸泡在二甲苯中的时间随标本体型大小而定, 浸 1~4 h 不等, 时间太长, 标本会变得过脆。从二甲苯中取出标本后放在玻璃皿中整姿, 可用细小吸水纸吸收多余液体, 在表面的二甲苯马上要干燥前进行针插或粘贴。纤维素溶解剂和二甲苯都可重复利用多次。二甲苯有致癌风险, 可以用 Histo-Clear 代替, 这是一种无毒可生物降解的环保型组织透明剂, 操作方法不变。这样处理过的标本虽然脆性增加, 但是表面纠结的毛被可以变得松散自然, 可以根据需要决定是否采用此方法 (Gibb and Oseto, 2006)。

2.3 标本整姿

体型较大, 且翅脉较复杂或翅有纵褶的膜翅目, 如叶蜂总科、胡蜂总科等, 如有必要可按通用的标本整姿方法针插后整姿, 因为侧板特征非

常重要,整姿时注意足不能遮挡胸部侧面。体型小的膜翅目如果翅出现交叠、扭曲或弯折的情况,需要在针插或粘贴前整姿。用镊子小心从酒精或乙酸戊酯中取出样品,将翅展开放在滤纸上,等待自然晾干后即可得到翅面平展的标本。如果翅没有一次展平,不能硬扯,应用镊子尖端添加一滴液体使之平展。15~20 min 后样品微干即可针插或者胶粘。从乙酸戊酯中取出的样品,应在 25 min 内完成标本制作,以避免在插针过程中损坏附肢。如需加快晾干样品,将放样品的滤纸放在加热的瓷片或者石棉网上,可使样品立刻伸展。如果是翅扭曲不严重的干标本,可以用须眉画笔蘸 75%乙醇拉直。做纸卡粘贴标本需要在展翅时将翅保持在身体上部。清洁整姿好的标本即可进行下一步制作。

3 针插标本制作

膜翅目昆虫针插标本制作方法与一般的针插方法无异,分为直接针插、二重针插和卡粘 3 种。体型过小且体壁骨化较弱、观察特征需要制成玻片的类群不适宜做成针插标本,如蚜小蜂科 Aphelinidae、跳小蜂科 Encyrtidae、缨小蜂科 Mymaridae 等。

3.1 直接针插

体长超过 7 mm 或胸背厚度超过 3 mm 的标本适宜直接针插 (Heraty *et al.*, 2006)。根据标本体型选择昆虫针针号 (1~3 号),在中胸中央稍右垂直插入。已经插针的标本,将针尖放入三级台的第一级的孔中,将针下压,然后再移至第二级、第三级逐渐下压,最后再倒置把针头插入第一级孔中,使背面与三级台紧贴,这样使虫体背面与针头的距离保持 8 mm,压时要小心,保持足完整。

3.2 二重针插

对于体型相对较小的膜翅目昆虫可以采用二次针插的方法,先将 2.5 mm 宽的软木块插到 2 号或 3 号昆虫针上,再将微针尖端从微小昆虫的胸部插入,然后将微针插在小的软木块上

(Lin, 1992)。软木块可以用硅橡胶块或者其他牢固的聚酯泡沫块等代替,微针与昆虫针平行。有些国外的昆虫学者用多孔菌切成小方块使用,易插且牢固,但多孔菌材料不易获得,如果保管不善有可能会被食菌昆虫取食 (Gibb and Oseto, 2006)。二重针插制作的标本特征容易观察,但也要求制作者特别细致小心、不能损坏标本。

3.3 纸卡粘贴

采用纸卡粘贴是制作小型膜翅目昆虫针插标本最常用的方法。纸卡通常是矩形或者三角形,长度和宽度根据虫体体型决定,用厚度至少 20 磅的高品质无酸纸制成,可以自制(用特制的打孔钳打孔或按打印好的纸卡形状剪开),或者直接购买成品。用 3 号昆虫针插入纸卡的一端(三角纸卡底边内侧),注意插入的位置要整齐一致,卡面在昆虫针左方,离针顶 8 mm。将膜翅目标本的胸部侧面粘在纸卡的另一端(三角纸卡的尖端),注意胶要适量,既要粘牢又不能过多遮挡标本特征。卡粘的方法简单易行,但有两个方面值得关注:胶水使用和粘贴方式。

3.3.1 胶水使用 制作纸卡粘贴标本最常遇到的困扰就是选择胶水。胶水粘度不够、干燥速度过快或过慢、干燥后变薄变脆、标本易脱落、胶水溶剂有害健康、胶水透明度不佳和重新溶解困难等等,每种胶水都具有这其中几个或几个缺点。因为不同研究者的偏好和侧重点不同,一些胶水使用年限不长,对它们的老化程度也不了解,在此不推荐胶水,只罗列一些胶水的种类和使用感受,以资大家探讨,表格内容在已有参考文献基础上 (Heraty *et al.*, 2006),根据实践经验略有改动 (表 1)。

这些常用胶各有利弊,使用时需要注意以下几点:

1) 虫胶颜色深棕,透明度不高,影响观察特征。可以选用漂白虫胶或透明虫胶,配胶方法不变。

2) 虫胶为片状、颗粒状或粉状,使用时需要自己制成胶状。很多文献介绍溶解虫胶需先行加热,再将乙醇倒入热胶中溶解。这种方法溶胶

表 1 昆虫标本制作的胶水种类及其特性
Table 1 Glue type and features

胶种类 Glue type	溶剂 Solvent	牢固程度 Hold	其他特性 Features
虫胶 Shellac gel	乙醇、乙酸乙酯 Ethanol, ethyl acetate	非常牢固 Excellent holding power	干燥速度较慢 Slow drying 适合小型至微小昆虫 Best for small insects
聚乙酸乙烯酯 PVA polyvinyl ccetate	乙醇、丙醇、苯 Ethanol, sopropanol, benzene	非常牢固 Excellent holding power	干燥速度适中 Medium drying 粘性强 Strong stickiness
木工胶 Wood glue	水 Water	牢固 Good holding power	干燥速度适中 Medium drying 很多种类含有甲醛、苯酚， 选购时应注意避免 Choose formaldehyde and phenol free products
白胶（文具类） White glue	水 Water	较弱 Weak stickiness	最方便易得 Readily available 干燥速度较快 Medium drying 不适用微小昆虫 Bad for small insects 长时间放置后，再溶解很难 Becomes insoluble
透明指甲油 Nail polish	丙酮 Acetone	牢固 Good holding power	干燥迅速 Fast drying 不适用小昆虫 Bad for small insects 长时间放置后，再溶解很难 Becomes insoluble

很快，但是特别危险，容易发生火灾，不建议采用。常温中用 75%乙醇溶解虫胶非常缓慢，建议用浓度 95%以上乙醇进行溶解,将 95%以上乙醇倒入虫胶瓶中，注意搅拌不让虫胶结块，然后静置等待溶解即可。如果一定要加热，必须在不超过 60℃的水浴中加热溶解。

3) 聚乙酸乙烯酯 PVA，常用作粘贴木料、砖瓦、透明纸胶带等，通常是无色粘稠液体或无色至微黄透明玻璃状颗粒，溶于乙醇、丙醇、苯等，不溶于水和脂肪，有时称为乳胶或白胶（与文具类的白胶不同）。如果找到的 PVA 是固体颗粒，可用无水乙醇溶解。

4) 具零星报道，用白胶（文具类）和透明指甲油粘贴的标本，经过长时间保存后会损伤标本，越小的标本损坏越大。由于制作的一些白胶粘贴标本保存时间尚短，损坏到何种程度、如何损坏目前还不得而知。

3.3.2 粘贴方式

1) 矩形纸卡

用矩形纸卡粘贴最容易遮挡标本特征，同时也是最能整体保护标本的一种方式，这种方法粘的标本几乎不会脱落。标本侧躺粘贴，必须保证

标本胸部背面和头部前面完全可见，翅不能沾到胶。虫体与纸卡边缘成 45°夹角，头部向前侧，尽量不与纸卡接触，胸部与纸卡表面 45°接触，至于虫体背面朝向昆虫针还是相反方向，可以根据观察习惯自己调节，但所有标本需要统一方向（图 1）。有些稍大体型且腹面特征不甚重要的膜翅目可以腹面向下平趴粘贴在透明塑料卡上。

2) 三角形纸卡

三角形纸卡相对可以露出更多特征部位。粘贴时标本头部向前，三角纸卡尖端不弯折时，粘贴标本左侧中胸侧板，虫体与纸卡平行，注意避让左翅和足。三角纸卡尖端向下弯折时，粘贴标本右侧中胸侧板，避让开右翅，虫体与纸卡成一定角度。也可以在尖端不弯折时粘贴右侧中胸侧板，但采用这种方式，标本、胶和纸卡接触面都较小，标本粘贴不易牢固。用三角纸卡粘贴一定要选择牢固程度高的胶，如果尖端要弯折则纸卡不能太厚（图 2）。

3.4 雄性外生殖器标本

有些类群如蚁蜂科 Mutillidae 等，需要解剖雄性外生殖器，可将雄性外生殖器用甘油保存在微型 PE 管中，与标本插在同一根昆虫针上(图 3)。

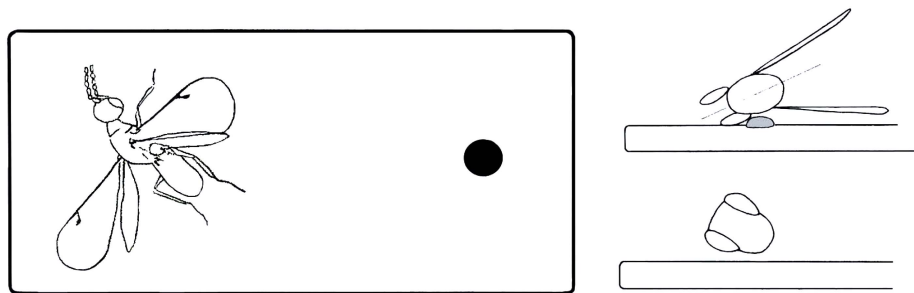
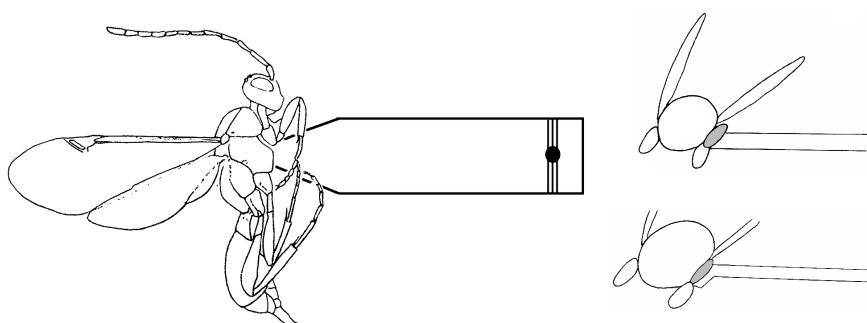
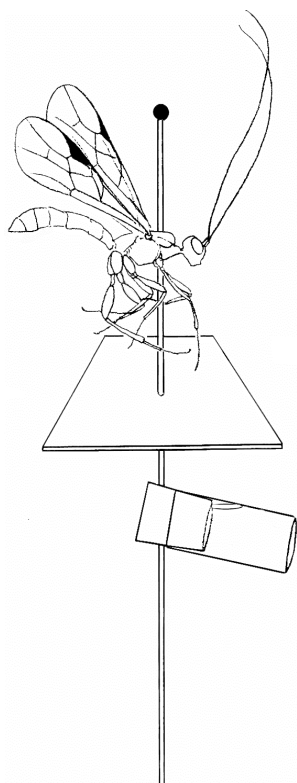
图 1 矩形纸卡粘贴方式 (仿 Heraty *et al.*, 2006)Fig. 1 Positioning card mounts (redraw according to Heraty *et al.*, 2006)图 2 三角纸卡粘贴方式 (成角度粘贴示意图仿 Heraty *et al.*, 2006)Fig. 2 Positioning point mounts (two sketches on the right redraw according to Heraty *et al.*, 2006)

图 3 直接针插+胸外生殖器保存

Fig. 3 Specimen mounted with microvial containing genitalia

4 标签

标本制作好后应立即插上两个标签,上面一个为采集签,书写采集地点(省、市/县、乡镇、具体采集地),海拔高度,采集时间和采集人。采集时间采用 1.I.2017 或 1.i.2017 的形式,特别注意如果是手写采集时间,最好采用 1.i.2017 的方式,防止出现阿拉伯数字 1 和大写罗马数字 I 混淆的情况)。有经纬度记录需要规范书写(如 35°46'N, 而不是 35.46N 或 35 46)。第二个为寄主签,书写寄主名称、寄主植物名称和环境等。已经查出学名的,或者经过研究审定中名的,可插上第三个写有中名、学名和鉴定人的学名签。如果标本经过除乙醇之外的化学物质处理(如纤维溶解素、乙酸乙酯或乙酸戊酯等),需要在标签上特别注明,以免影响后续分子生物学研究。标签纸选用 20 磅以上卡纸,长度不超过 15~18 mm,宽度不超过 7~8 mm。标本与标签的相对位置如图 4。

标本制作好后整齐插入标本盒,做好防霉防蛀措施,即可永久保存。

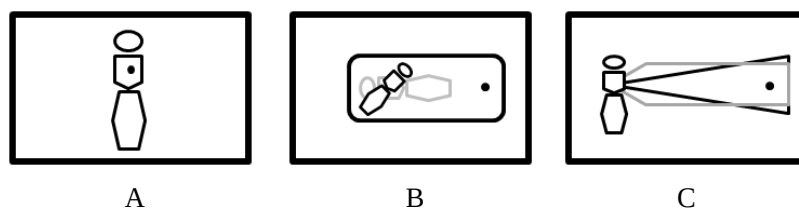


图 4 标本与标签相对位置

Fig. 4 Placing the labels

A. 直接针插标本; B. 矩形纸卡标本 (2 种标本方向); C. 三角纸卡标本 (2 种三角纸卡形式)。
A. Proper labeling of direct pinning; B. Proper labeling of card mounts; C. Proper labeling of point mounts.

参考文献 (References)

- Agnoli GL, Rosa P, 2012. Chrysis.net website, interim version, <http://www.chrysis.net/chrysis/intro/preparation.htm>.
- Gibb TJ, Oseto CY, 2006. Arthropod Collection and Identification: Field And Laboratory Techniques. London: Academic Press. 1-311.
- Heraty J, Yanega D, Triapitsyn S, 2006. Museum specimen preparation guidelines (incl. vouchers). http://entmuseum.ucr.edu/specimen_preparation/index.html.
- Lin YZ, 1992. Insect Specimen Preparation. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers. 1-104. [林荫珍, 1992. 昆虫标本制作. 上海: 上海科学技术出版社. 1-104.]
- Peterson A, 1964. Entomological Techniques, 10th ed. Michigan: Edwards, Ann Arbor. 1-435.
- van Achterberg C, 2009. Cantownes type malaise traps be improved? Some recent developments. *Entomologische Berichten*, 69(4): 129-135.
- Wu Q, Tang P, Chen XX, 2015. Methods and techniques for surveying and sampling parasitoid wasps. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(3): 759-769. [吴琼, 唐璞, 陈学新, 2015. 寄生蜂采集与田间调查取样技术. 应用昆虫学报, 52(3): 759-769.]